

TESIS

PENGARUH TERAPI N-ASETIL SISTEIN TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN 17 DAN FIBROSIS INTERSTITIAL PADA MENCIT NEFRITIS LUPUS

**Disusun untuk kualifikasi mencapai derajat Magister Kesehatan
Pada Program Studi Magister Kedokteran Keluarga
Minat Utama Ilmu Biomedik**



Oleh:

**Warigit Dri Atmoko
S 961108007**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET SURAKARTA
2016**

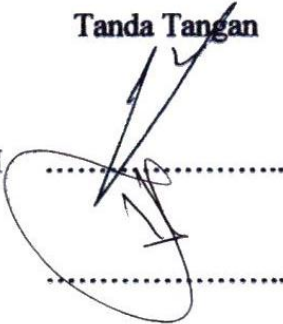
TESIS

PENGARUH TERAPI N-ASETIL SISTEIN TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN 17 DAN FIBROSIS INTERSTISIAL PADA MENCIT NEFRITIS LUPUS

Oleh :

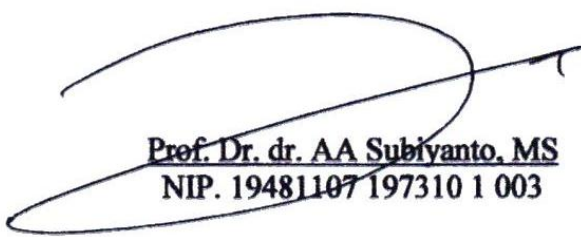
Warigit Dri Atmoko
S 961108007

Telah disetujui oleh Tim Pembimbing

Komisi Pembimbing	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing I	Prof. Dr. dr. HM Bambang Purwanto, SpPD-KGH, FINASIM NIP. 19480719 197609 1 001		3 / 10 / 16
Pembimbing II	Dr. dr. Sugiarto SpPD-KEMD, FINASIM NIP. 19620522 198901 1 001		5 / 10 / 16

Telah dinyatakan memenuhi syarat
pada tanggal, Oktober 2016

Kepala Program Studi Magister Kedokteran Keluarga
Program Pascasarjana UNS


Prof. Dr. dr. AA Subiyanto, MS
NIP. 19481107 197310 1 003

TESIS

PENGARUH TERAPI N-ASETIL SISTEIN TERHADAP EKSPRESI
INTERLEUKIN 17 DAN FIBROSIS INTERSTITIAL
PADA MENCIT NEFRITIS LUPUS

Disusun untuk kualifikasi mencapai derajat Magister Kesehatan
Pada Program Studi Magister Kedokteran Keluarga
Minat Utama Ilmu Biomedik

Oleh :

Warigit Dri Atmoko
S 961108007

Tim Penguji :

Jabatan	Nama
Ketua	Dr. Hari Wujoso, dr. SpF, M.M NIP. 19621022 199503 1 001
Sekretaris	Dr. Sugiarto, dr. SpPD-KEMD, FINASIM NIP. 19620522 198901 1 001
Penguji	Prof. Dr. J. Priyambodo, dr. SpMK, M.S NIP. 19430918 197609 1 001 Prof. Dr. HM. Bambang P, dr. SpPD-KGH, FINASIM NIP. 19480719 197609 1 001

Tanda Tangan



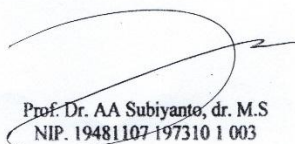
Mengetahui,

Direktur Program Pascasarjana

Kepala Program Studi
Magister Kedokteran Keluarga



Prof. Dr. M Furqon Hidayatullah, M.Pd
NIP. 19600727 198702 1 001


Prof. Dr. AA Subiyanto, dr. M.S
NIP. 19481107 197310 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI

Saya menyatakan dengan sebesar-besarnya bahwa:

1. Tesis yang berjudul **“Pengaruh Terapi N-Asetilsistein Terhadap Interleukin 17 Dan Fibrosis Interstisial Pada Mencit Nefritis Lupus”** ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang tertulis dengan acuan yang disebutkan sumbernya, baik dalam naskah karangan dan daftar pustaka. Apabila ternyata didalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi, baik tesis beserta gelar Magister saya dibatalkan serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
2. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi Tesis pada jurnal atau forum ilmiah harus menyertakan tim promotor sebagai *author* dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, Oktober 2016



Warigit Dri Atmoko

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah rabbil'alamin penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan kasih sayang, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan tesis yang berjudul **PENGARUH TERAPI N-ASETIL SISTEIN TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN 17 DAN FIBROSIS INTERSTISIAL PADA MENCIT NEFRITIS LUPUS** dapat terselesaikan. Penelitian ini disusun untuk kualifikasi mencapai derajat Magister Kesehatan pada Program Studi Magister Kedokteran Keluarga minat utama Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. **Prof. Dr. Ravik Karsidi, M.S**, selaku Rektor Universitas Sebelas Maret yang telah memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan pendidikan di Universitas Sebelas Maret.
2. **Prof. Dr. M. Furqon Hidayatullah, M.Pd**, sebagai Direktur Program Pasca Sarjana UNS beserta staf atas kebijakannya yang telah mendukung dalam penulisan penelitian tesis ini.
3. **Prof. Dr. AA. Subiyanto, dr. MS**, sebagai Kepala Program Studi Magister Kedokteran Keluarga yang telah memberikan dorongan dan arahan kepada penulis untuk pelaksanaan dan penulisan tesis ini.
4. **Prof. Dr. Hartono, dr. M.Si**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret yang memberikan penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran UNS.
5. **Endang Agustinar, dr.M.Kes**, sebagai Direktur RSUD Dr. Moewardi beserta seluruh jajaran staf direksi yang telah berkenan dan mengijinkan untuk menjalani program pendidikan PPDS Ilmu Penyakit Dalam.
6. **Prof. Dr. HM. Bambang Purwanto, dr. SpPD-KGH, FINASIM**, selaku Kepala Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK UNS/RSUD Dr Moewardi dan Pembimbing I yang telah membimbing dan memberikan pengarahan dalam

penyusunan tesis ini, serta memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.

7. **Dr. H. Sugiarto, dr. SpPD-KEMD, FINASIM**, selaku Kepala Program Studi PPDS I Ilmu Penyakit Dalam dan Pembimbing II yang telah membimbing dan memberikan pengarahan dalam penyusunan tesis ini dan memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan program PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
8. **Diding Heri P, dr. SpPD, M.Si, M.kes**, selaku pembimbing statistik penelitian, yang dengan kesabaran telah membimbing dan memberikan pengarahan dalam penyusunan tesis.
9. **Dr. Hari Wujoso, dr. SpF, M.M**, sebagai Tim Penguji Magister Kedokteran Keluarga yang telah memberikan dorongan dan arahan kepada penulis untuk pelaksanaan dan penulisan tesis ini.
10. **Prof. Dr. J. Priyambodo, dr. SpMK, M.S**, sebagai Tim Penguji Magister Kedokteran Keluarga yang telah memberikan dorongan, masukan dan kritik kepada penulis untuk pelaksanaan dan penulisan tesis ini.
11. Seluruh Staf Pengajar Ilmu Penyakit Dalam FK UNS/RSUD Dr Moewardi Surakarta, Prof. Dr. H A Guntur Hermawan dr. SpPD KPTI FINASIM (Alm), Prof. Dr. Bambang Purwanto, dr. SpPD KGH FINASIM, Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr. SpPD KR FINASIM, Prof. Dr. Djoko Hardiman, dr. SpPD KEMD FINASIM, Suradi Maryono, dr. SpPD KHOM FINASIM, Sumarmi Soewoto dr. SpPD KGer FINASIM, Tatar Sumandjar, dr. SpPD KPTI FINASIM, Tantoro Harmono, dr. SpPD KGEH FINASIM, Tri Yuli Pramana, dr. SpPD KGEH FINASIM, P Kusnanto, dr. SpPD KGEH FINASIM, Dr. Sugiarto, dr. SpPD KEMD FINASIM, Supriyanto Kartodarsono, dr. SpPD KEMD FINASIM, Supriyanto Muktiatmojo, dr. SpPD FINASIM, Dhani Redhono, dr. SpPD KPTI FINASIM, Wachid Putranto, dr. SpPD KGH FINASIM, Arifin, dr. SpPD KIC FINASIM, Fatichati Budiningsih, dr. SpPD KGer FINASIM, Agung Susanto, dr. SpPD, Arief Nurudin, dr. SpPD, Agus Joko Susanto, dr. SpPD, Yulyani Werdiningsih, dr. SpPD, Marwanta, dr. SpPD, Aritantri, dr. SpPD, Bayu Basuki W, SpPD MKes, R. Satriyo, dr. SpPD

MKes, Evi Nurhayatun, dr. SpPD MKes, Eva Nia M, dr. SpPD MKes, Yudhi Hajianto N, dr. SpPD MKes, Diding Heri P, dr. MSi, SpPD MKes, SpPD MKes, Ratih Tri KD, dr. SpPD, Agus Jati SpPD, yang telah memberi dorongan dan bimbingan dalam segala bentuk sehingga penulis bisa menyelesaikan penyusunan tesis.

12. **Segenap Dosen Program Magister Kedokteran Keluarga** Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah membekali ilmu pengetahuan yang sangat berarti bagi peneliti.
 13. **Drg. H. Soewardo Hatmosumarto, Ibu Hj. Mieke Utami, Bpk. H. Tri Susilo, SE, Ibu Hj. Ria Kuspadmini**, Orang tua dan Mertua, yang telah memberikan dorongan baik moril maupun materiil dalam menjalani pendidikan PPDS I Penyakit Dalam.
 14. **Istriku tercinta Evin Kurnia Triasanti, SKg, anakku tercinta M.Rakan Arsyad Trihatmo, M. Rafif Alkhalifi Trihatmo dan inshaAlloh anakku di dalam kandungan** yang selalu memberikan dukungan doa, semangat, keceriaan dan inspirasi dalam menjalani pendidikan PPDS I bagian Ilmu Penyakit Dalam.
 15. **Seluruh Teman Sejawat Residen Penyakit Dalam** yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis baik dalam penelitian ini maupun selama menjalani pendidikan.
 16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu baik dalam menjalani pendidikan maupun dalam penelitian ini.
- Penyusun menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan tesis ini masih banyak terdapat kekurangan, untuk itu penyusun mohon maaf dan sangat mengharapkan saran serta kritik yang membangun dalam rangka perbaikan penulisan penelitian tesis ini.

Surakarta, Oktober 2016
Penyusun

Warigit Dri Atmoko

Warigit Dri Atmoko. 2016. Pengaruh Terapi N-Asetilsistein Terhadap Ekspresi Interleukin-17 dan Fibrosis Interstisial Pada Mencit Nefritis Lupus. TESIS. Pembimbing I: Prof.Dr. dr. HM Bambang Purwanto, Sp.PD-KGH, FINASIM, Pembimbing II: Dr. dr. Sugiarto, Sp.PD-KEMD, FINASIM. Program Studi Kedokteran Keluarga, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

ABSTRAK

Latar Belakang

Lupus nefritis (LN) terkait dengan penebalan membran basal glomerulus. Pengendapan kompleks imun memicu kaskade respon inflamasi disertai aktivasi *reactive oxygen species* (ROS), akhirnya terjadi fibrosis yang mendorong terjadinya kerusakan ginjal. Interleukin-17 adalah sitokin pro-inflamasi kuat yang dihasilkan oleh limfosit T teraktivasi. IL-17 dikaitkan dengan kerusakan organ imun dalam beberapa penyakit autoimun, kadarnya meningkat dan berkorelasi dengan aktivitas SLE. N-Asetil Sistein (NAS) merupakan suatu senyawa dengan efek antioksidan dan antiinflamasi, sehingga mampu mencegah terjadinya peningkatan ekspresi IL-17 dan fibrosis interstisial.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh NAS terhadap ekspresi IL-17 dan fibrosis interstisial ginjal pada mencit lupus nefritis.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, dengan sampel 24 ekor mencit Balb/C betina yang dibagi menjadi kelompok kontrol, LN, dan LN+NAS. Untuk membuat model LN, hewan coba diberikan injeksi 0,5 ml pristan intraperitoneal dosis tunggal. NAS diberikan secara peroral dengan dosis 4,7mg/hari (setara dengan dosis manusia 1.800 mg) selama delapan minggu. Mencit kontrol tidak diinokulasi selama penelitian. Ekspresi IL-17 dihitung dari 100 sel netrofil yang immunoreaktif dengan teknik imunohistokimia dan fibrosis interstisial dengan teknik histopatologi. Analisis data menggunakan *analysis of variance* (Anova) dan untuk menentukan perbedaan kemaknaan digunakan $p < 0,05$.

Hasil Penelitian

Pemberian N-Asetilsistein menurunkan ekspresi IL-17 ($23,8 \pm 14,1$ vs $10,6 \pm 6,8$ per 100 sel netrofil immunoreaktif; $p = 0,042$) dan menurunkan fibrosis interstisial ($22,3 \pm 5,7$ vs $15,5 \pm 5,4$; $p = 0,030$) dibandingkan kelompok LN.

Kesimpulan

Pemberian N-Asetilsistein secara bermakna menurunkan ekspresi IL-17 dan fibrosis interstisial pada mencit LN.

Kata kunci: fibrosis, IL-17, lupus nefritis, pristan

Warigit Dri Atmoko. 2016. Analysis of Effect of N-acetylcysteine on Interleukin-17 expression and Interstitial Fibrosis in Mice of nephritis lupus. THESIS. Supervisor I: Prof.Dr. dr. HM Bambang Purwanto, Sp.PD-KGH, FINASIM, Supervisor II: Dr. dr. Sugiarto, Sp.PD-KEMD, FINASIM. Program Study of Medical Family, Post-graduate Program of Sebelas Maret University Surakarta.

ABSTRACT

Background

Lupus nephritis (LN) is associated with thickening of the glomerular basement membrane. The deposition of immune complexes triggers a cascade of inflammatory response with activation of reactive oxygen species (ROS), it finally happened fibrosis leads to a kidney damage. Interleukin-17 (IL-17) is a potent pro-inflammatory cytokine that is produced by activated T lymphocytes. IL-17 has been linked to the instigation of immune-mediated organ damage in the context of several autoimmune diseases, the levels are increased and correlate with SLE activity. N-Acetyl Cysteine (NAS) is a compound with antioxidant and anti-inflammatory effects, so as to prevent an increase in expression of IL-17 and interstitial fibrosis.

Objectives

This study aimed to analyze the effects of NAS on the expression of IL-17 and interstitial fibrosis in mice of lupus nephritis.

Methods

This study is an experimental research laboratory, with a sample of 24 females Balb/C mice were divided into a control group, LN and LN+NAS. To create a model LN, experimental animals given intraperitoneal injection of 0.5 ml Pristan single dose. NAS administered orally at a dose of 4.7 mg/day (equivalent to a human dose of 1,800 mg) for eight weeks. Control mice not inoculated during the study. Expression of IL-17 was calculated from 100 neutrophil cells immunoreactive with immunohistochemical and interstitial fibrosis with histopathological techniques. One way analysis of variance (Anova) for IL-17 expression and interstitial fibrosis, and $p < 0.05$ were used to determine the significant differences.

Results

The provision of NAS decreased the expression of IL-17 (23.8 ± 14.1 vs 10.6 ± 6.8 per 100 neutrophils immunoreactive cells; $p = 0.042$) and interstitial fibrosis (22.3 ± 5.7 vs 15.5 ± 5.4 ; $p = 0.030$) compared to LN group respectively.

Conclusions

The provision of NAS significantly decrease the expression of IL-17 and interstitial fibrosis in mice LN.

Key words: fibrosis, IL-17, Lupus nephritis, pristane

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II LANDASAN TEORI	8
A. Tinjauan Pustaka	7
1. Anatomi dan Histologi Sistem Urinaria.....	7
2. Nefritis Lupus	11
1.1.Patogenesis lupus nefritis.....	12
1.2.Terapi lupus nefritis	15
3. N-Asetil Sistein	16
4. Peran Fibrosis interstisial pada nefritis lupus	18
5. Peran IL-17 pada nefritis lupus	22
B. Penelitian Relevan	25
C. Kerangka Pikir	26
1. Kerangka Teori	26
2. Kerangka Konseptual.....	30
D. Hipotesis Penelitian	30

BAB III METODE PENELITIAN	31
A. Jenis Penelitian.....	31
B. Tempat dan Waktu Penelitian	32
C. Subyek Penelitian dan Besar Sampel	32
D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	34
1. Variabel Penelitian	34
2. Definisi Oprasional	34
E. Teknik Pengumpulan Data	37
F. Teknik Pendeteksian dan Pengukuran Data	38
1. Teknik Pembuatan Preparat Histologis Ginjal.....	38
2. Teknik Pewarnaan Imunohistokimia IL-17	39
G. Analisis Data	41
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
A. Hasil Penelitian.....	42
1. Proses Analisis Penelitian	42
2. Deskripsi Variabel Penelitian.....	44
3. Analisis Pengaruh NAS terhadap Ekspresi IL-17 dan tingkat fibrosis interstisialpada Mencit yang Terinduksi Pristan.....	46
B. Pembahasan	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	60
A. Kesimpulan.....	60
B. Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Anatomi ginjal (Eroschenko, 2000)	9
Gambar 2.2.	Nefron (Eroschenko, 2000)	
Gambar 2.3.	Penampang Glomerulus (Robbins dan Cotran, 2005).....	10
Gambar 2.4.	Histologi korteks, medulla, piramid dan papila ginjal (Eroschenko, 2000)	11
Gambar 2.5.	Peran sitokin dalam patogenesis lupus nefritis (Iwata dkk., 2011)	15
Gambar 2.6.	Struktur molekul N-Asetil Sistein (Heloisa dkk., 2005)	17
Gambar 2.7.	Farmakodinamik N-Asetil Sistein (Nolin dkk., 2010).....	19
Gambar 2.8.	Mekanisme fibrosis (Robbins dan Cotran, 2005).....	21
Gambar 2.9.	Jalur crosstalk TGF- β /smads pada fibrosis dan inflamasi ginjal (Lan, 2011).....	22
Gambar 2.10.	Inflamasi merupakan faktor kunci dalam patogenesis lupus (Gottschalk dkk., 2015)	25
Gambar 2.11.	Kerangka Teori	27
Gambar 2.12.	Kerangka konseptual	31
Gambar 3.1.	Bagan rancangan penelitian.....	32
Gambar 3.2.	Kerangka operasional Pristan dan N-asetil sistein	37
Gambar 5.1.	Perbandingan Nilai Rata-rata Ekspresi IL 17 (per 100 sel netrofil) antar Kelompok Sampel	45
Gambar 5.2.	Perbandingan Rata-rata tingkat fibrosis interstisial antar Kelompok Sampel.....	46
Gambar 5.3.	Perbandingan gambaran protein IL 17 yang diekspresikan sel netrofil masing-masing kelompok.....	48
Gambar 5.4.	Perbandingan gambaran tingkat fibrosis interstisial. A: ginjal normal ; B: fibrosis dan inflamasi interstisial	50

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1.	Deskripsi dan Uji Normalitas ekspresi IL 17	44
Tabel 5.2.	Deskripsi dan Uji Normalitas tingkat fibrosis interstisial.....	45
Tabel 5.3.	Perbedaan rata-rata ekspresi IL 17 per 100 sel netrofil dalam kelompok sampel.....	47
Tabel 5.4.	Perbedaan rata-rata ekspresi IL 17 per 100 sel netrofil antar kelompok sampel.....	48
Tabel 5.5.	Perbedaan rata-rata tingkat fibrosis interstisial menurut kelompok sampel.....	49
Tabel 5.6.	Perbedaan rata-rata tingkat fibrosis interstisial antar kelompok sampel.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Ethical Clearance.....	68
Lampiran 2.	Analisis Statistik IL 17	69
Lampiran 3.	Analisis Statistik fibrosis interstisial	70

DAFTAR SINGKATAN

BMP-7	: bone morphogenic protein-7
DAMP	: damaged associated molecular pattern
DNA	: deoxyribonucleic acid
ECM	: extra cellular matrix
ICAM	: intercellular adhesion molecule
IL	: interleukin
I κ B	: Inhibitor kappa beta
LN	: lupus nefritis
LES	: lupus eritematous sistemic
MMP-9	: matrix metalloproteinase 9
NF- κ B	: nuclear factor kappa beta
NAS	: n-asetil sistein
NCF	: neutrophil chemotactic factor
PMN	: polimorfonuklear
ROS	: reactive oxygen species
SLEDAI	: systemic lupus erythematosus disease activity index
TGF- β 1	: tumor growth factor beta 1
Th	: T helper
TLRs	: toll like receptors
TNF- α	: tumor necrosis factor alfa

